

マウス同種腓ラ島移植における抗ICAM-1抗体および抗LFA-1抗体のグRAFT生着延長効果

著者	荒井 浩介
号	2859
発行年	1996
URL	http://hdl.handle.net/10097/21344

氏 名（本籍） あら い こう すけ
荒 井 浩 介

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 8 5 9 号

学位授与年月日 平 成 8 年 3 月 8 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭 和 63 年 3 月 25 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 マウス同種脾ラ島移植における抗 ICAM-1 抗体お
よび抗 LFA-1 抗体のグラフト生着延長効果

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 松 野 正 紀 教授 藤 村 重 文

教授 里 見 進

論文内容要旨

【目 的】

従来の移植実験では効果が確認されていない抗マウス ICAM-1 抗体, KAT-1 を使用して, この新しい抗 ICAM-1 抗体の単独, あるいは抗 LFA-1 抗体との併用によって同種ラ島グラフトの生着期間に及ぼす影響を検討した。さらに ICAM-1/LFA-1 阻害による移植片拒絶反応制御のメカニズムをグラフト浸潤細胞のサイトカイン mRNA 発現様式の面から検索した。

【方 法】

ICR マウスをドナー, C57BL/6 マウスをレシピエントとした。コラゲナーゼ消化法にて得た分離ラ島 500~700 個を一晩培養後, ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウス (非空腹時血糖 ≥ 400 mg/dl) の左腎皮膜下に移植し, 実験モデルを作成した。抗接着分子モノクローナル抗体は, YN1/1.7 (ラット抗マウス ICAM-1 抗体), KAT-1 (ラット抗マウス ICAM-1 抗体), KBA (ラット抗マウス LFA-1 抗体) を使用した。以下(1)~(3)の検討を行った。(1)移植実験: 抗体の投与方法により, Group 1=抗体非投与 ($n=9$), Group 2=YN1/1.7 を 7 日間投与 ($n=5$), Group 3=KAT-1 を 3 日間投与 ($n=6$), Group 4=KAT-1 を 7 日間投与 ($n=9$), Group 5=KAT-1+KBA を 3 日間併用投与 ($n=5$), Group 6=KAT-1+KBA を 7 日間併用投与 ($n=7$) の 6 つの group に分類した。抗体は移植直後より計 $100 \mu\text{g}/\text{mouse}/\text{day}$ を連日, 腹腔内に投与した。非空腹時血糖を測定し, $300\text{mg}/\text{dl}$ 以上に再上昇したときを拒絶と判断した。各 Group のグラフト生着期間を比較した (Student's t-test, $p<0.05$ で有意差あり)。(2)組織学的検討: KAT-1 と KBA を 7 日間併用投与した移植マウスにおいて, 移植後 7 日目と移植後 100 日以降 (正常血糖が継続) に左腎を標本として摘出した。対照として抗体非投与群から移植後 7 日目の左腎を摘出し標本とした。HE 染色にて腎被膜下のラ島グラフトを観察した。(3)グラフト浸潤細胞のサイトカイン mRNA 発現様式: 抗体非投与の移植マウスについて移植後 3 日目と 7 日目に, そして KAT-1+KBA, 7 日間併用投与の移植マウスについて移植後早期 (13 日目) と長期生着時 (141 日目) に, それぞれグラフトを摘出し, RT-PCR 法によりグラフト浸潤細胞の IL-2, IFN γ , IL-4, IL-10 の mRNA 発現を検索した。

【結 果】

(1)移植実験: グラフト生着日数 (mean \pm SD) は, Group 1= 10.0 ± 2.9 , Group 2= 13.2 ± 4.0 , Group 3= 35.8 ± 34.5 , Group 4= 49.4 ± 38.1 , Group 5= 37.4 ± 35.5 , Group 6= 90.0 ± 26.5 であっ

た。抗体投与群では Group 2 を除くすべての Group で抗体非投与 (Group 1) に対して有意に生着期間が延長していた。KAT-1 単独投与群と KAT-1+KBA 併用投与群を比較すると、7 日間投与の場合においてのみ併用投与群で有意の延長を示していた。100 日以上長期生着は Group 5 で 33%, Group 6 で 86% にみられた。(2)組織学的検討: 抗体非投与群の移植後 7 日目には著明な細胞浸潤とラ島グラフトの破壊像が認められた。しかし、KAT-1+KBA、7 日間併用投与群では、移植後 7 日目にラ島周囲にびまん性の細胞浸潤こそ認められるもののラ島グラフトの破壊はなく、長期に正常血糖が持続していた 100 日目以降になると、細胞浸潤はラ島グラフト周囲に極軽度みられるのみで、ラ島の形態も良好に保持されていた。(3)サイトカイン mRNA 発現様式: 抗体非投与では Th 1 サイトカインの IL-2 と IFN γ の発現がみられ、Th 2 サイトカインである IL-4、IL-10 の発現はなかった。しかし、KAT-1+KBA 投与群では、反対に IL-4 と IL-10 の発現がみられ、IL-2 と IFN γ の発現はみられなかった。

【ま と め】

マウス同種ラ島移植で、抗 ICAM-1 抗体、KAT-1 を使用することにより、ICAM-1 単独の阻害でもグラフト生着延長効果が得られることが確認された。そして、抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体を併用すると、これらを移植後短期投与するのみで、高率にグラフトの長期生着を導くことが可能であった。以上より、抗 ICAM-1/LFA-1 抗体は同種ラ島移植における有力な免疫制御法になるものと思われた。この ICAM-1 と LFA-1 の接着阻害による免疫不応答の機序には Th 1 サイトカインの産生阻害と Th 2 サイトカインの産生亢進、すなわち、Th 1 から Th 2 への Th 1 /Th 2 バランス変動が関与している可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

インスリン依存型糖尿病あるいは膵疾患、膵切除に伴う膵性糖尿病では外因性インスリンの投与のみで厳密な血糖管理を行うことは困難であり、quality of life が著しく損なわれるばかりか、生命までもが脅かされている患者が多数存在している。このような患者に対して、膵ランゲルハンス島（ラ島）移植が理想的な治療法としてその臨床応用が期待されてきた。しかし、現状ではラ島移植は治療法として未だ確立されておらず、いくつかの解決すべき問題点が指摘されている。その中でも最も大きな課題の一つが他の臓器移植と同様に免疫の壁である。本研究は、最近の免疫学の進歩を反映して、抗接着分子抗体の抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体を使った新しい免疫抑制法をマウスの同種ラ島移植に応用し、その効果と作用機序を検討したものである。

まず、抗 ICAM-1 抗体を単独で投与した場合、従来の移植実験で使用されていた抗 ICAM-1 抗体 YN1/1.7 では効果がなく、新しい抗 ICAM-1 抗体 KAT-1 を投与したときのみグラフトの生着延長効果がみられた。さらにこれに抗 LFA-1 抗体（KBA）を併用すると、移植後 7 日間投与することで 86% と高率に 100 日以上ラ島グラフトの生着が得られることが確認された。そして、ラ島グラフトに浸潤した細胞のサイトカインの mRNA の発現を RT-PCR によって検索した。抗体非投与群では IL-2、IFN- γ の Th1 サイトカインの発現が強くみられ、IL-4、IL-10 の Th2 サイトカインの発現はみられなかったのに対し、抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体を 7 日間投与しグラフトが生着している群では逆に Th2 サイトカインが優位で Th1 サイトカインの発現が抑えられていた。これらの結果から、同種ラ島グラフトの拒絶反応においては抗原提示細胞側の ICAM-1 が重要な役割を果たしており、抗 ICAM-1 抗体単独でもある程度の生着延長効果があること、そして、抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体の併用が同種ラ島移植において最も効果的であることがはじめて明らかとなった。また、抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体は Th1 を抑制するだけでなく、Th2 を賦活して積極的に拒絶反応を回避しているというユニークな作用機序をもつことがわかった。

以上のように本研究は、抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体が同種ラ島移植において臨床応用をも十分に期待できる優れた免疫制御法であること、そして、移植免疫での接着分子の働きが近年注目されているサイトカインの Th1/Th2 バランス理論と深くかかわっていることを示した。これは移植外科学、移植免疫学の進歩に大きく貢献する知見であると評価され、医学博士号の授与に値するものであると考えられる。